Untersuchungen zur Bestimmung der ABH-Antigene sowie MN- und RH-Faktoren in eingetrockneten und verunreinigten Blutspuren

---

von

Gustav Dillmann

aus Göppingen

1966

1966 MD 114

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535727_0035

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Untersuchungen zur Bestimmung der ABH-Antigene sowie MN- und RH-Faktoren in eingetrockneten und verunreinigten Blutspuren

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Gustav Dillmann
aus Göppingen

Gedruckt mit Erlaubnis der Hohen Medizinischen

Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Dekan: Prof. Dr.Dr. G. Steinhardt

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 16.5.66

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Allgemeiner Teil	4
A	Die klassischen Verfahren	4
1.	Das Absorptionsverfahren	4
2.	Der Agglutininnachweis	5
	Nachweisgrenzen bei der subtraktiven Methode	5
	Anwendungsbereich der klassischen Methoden	5
	Fehlerquellen der klassischen Methoden	6
B	Neuere Untersuchungsverfahren	7
1.	Untersuchungen von Coombs, Bedford und Rouillard	7
2.	Das Verfahren von Kind	9
3.	Das Verfahren von Coombs und Dodd	10
4.	Die Modifikation von Nickolls und Pereira	11
5.	Die Modifikation von Budvàri	12
II	Eigene Untersuchungen	15
A	Untersuchung von Blutspuren nach Budvàri	15
1.	Untersuchungsgang für ABH	15
2.	Untersuchung auf M und N	20
3.	Rh-Bestimmung	23
B	Untersuchung von verunreinigten Blutproben	24
1.	Untersuchung von verschmutztem blutbeflecktem Stoff	24
2.	Untersuchung von Blutproben in Erde	24
III	Zusammenfassung	29
IV	Literatur	30

An dieser Stelle danke ich Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas und für die bei der Durchführung der Arbeit jederzeit gewährte freundliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. L. Lautenbach für die zahlreichen Anregungen und Hinweise bei der Ausarbeitung der Dissertation.

I Allgemeiner Teil

Während die Bestimmung von Blutgruppen und Blutfaktoren bei Vollblut keine Schwierigkeiten bereitet, treten bei der Untersuchung von eingetrockneten und insbesondere verunreinigten Blutspuren zahlreiche Schwierigkeiten auf. Deshalb sind im Laufe der Zeit verschiedene Verfahren zur Blutfleckendiagnose entwickelt worden. Über die Reinigung verschmutzter Blutspuren und über die anschließende Blutgruppenbestimmung liegen wenig Mitteilungen vor.

A Die klassischen Verfahren

Angetrocknete Blutspuren können untersucht werden, indem man die Blutkörperchenmerkmale mit Antiserum im Absorptionsverfahren oder die vorhandenen Serumeigenschaften mit Testerythrozyten ermittelt.

1. Das Absorptionsverfahren

Es besteht darin, daß man das Trockenblut mit einer kleinen Menge Serum - A-Serum und B-Serum (Schiff) bzw. 0-Serum (Holzer) - zusammenbringt und einige Stunden im Kühlschrank inkubiert. Anschließend wird die Abnahme des Agglutinationstiters mit frischen Erythrozyten der Gruppe A und B geprüft. Aus der Titerabschwächung kann auf das Vorliegen der entsprechenden Agglutinogene im Trockenblut geschlossen werden. Auf dem Hemmversuch beruhen die Verfahren von Schiff, Holzer, Hausbrandt und Ponsold.

2. Der Agglutininnachweis

Agglutinine lassen sich nachweisen, indem eine kleine Menge Trockenblut oder des damit imprägnierten Materials mit einer Testblutkörperchenaufschwemmung unter ein Deckglas gebracht wird. Durch das Auflösen werden die vorhandenen Agglutinine wirksam und rufen bei ausreichender Menge eine Verklumpung der entsprechenden Testerythrozyten hervor. Auf diesem Prinzip beruht die Methode von Lattes und deren Modifikation nach Marcinkowski.

Nachweisgrenzen der subtraktiven Methoden

Holzer verwendet Trockenblutmengen von 10 - 20 mg, hält sein Verfahren aber bei wesentlich geringeren Spuren (bis zu 2 mg) noch für anwendbar. Hausbrandt beobachtete unter günstigen Bedingungen eine Agglutininbindung sogar bei einer Blutmenge von 0,1 mg. Er empfiehlt seine Kapillarmethode als Kontrolle zur normalen Absorptionsmethode. Ponsold hatte mit einer Mikromethode noch Erfolge mit 1 mg Trockenblut. Im allgemeinen sind aber mindestens 10 mg Trockenblut erforderlich, um ein hinreichend sicheres Ergebnis zu erhalten. Die Mikromethoden können allenfalls zum Vergleich herangezogen werden. Bei Lattes finden sich keine Angaben über die Nachweisgrenze.

Anwendungsbereich der klassischen Methoden

Mit dem Holzerschen Absorptionsverfahren bestimmt man die Blutgruppen A, B und AB, ebenso mit der Methode von Schiff. Beim Vorliegen der Gruppe 0 kommt es nicht zur Absorption eines Antikörpers, da die 0-Blutkörperchen α und β des Testserums nicht absorbieren. Die Faktoren M und N können mit

der Absorptionsmethode ebenfalls bestimmt werden, allerdings mit wesentlich geringerer Wahrscheinlichkeit und Sicherheit als die Blutgruppen. Bei M- und N-Testsuspensionen sind solche der Gruppe 0 zu verwenden. Falls man Testblutkörperchen der Kombination AM, AN oder BM, BN verwendet, treten, wie Lauer bemerkt, eventuell unspezifische Agglutinationen auf. Es handelt sich dabei um Gruppenreaktionen zwischen A und Anti-A bzw. zwischen B und Anti-B. Nach Mueller verlieren die Agglutinine M und N nach dem Eintrocknen rasch an Intensität, vor allem der Faktor N, so daß eine sichere Diagnose nur bei relativ frischen Blutspuren möglich ist (bis zu einem Alter von 3 - 4 Tagen). Die Schwankungen in der Qualität der Testseren Anti-M und Anti-N erschweren ebenfalls die Diagnose, vor allem, wenn ein schwaches N vorliegt, was häufig der Fall ist. Ein schwaches N kann nur von hochtitrigen Testseren von mindestens 5 Stufen erfaßt werden (Krah).
Mit der Lattes'schen Methode diagnostiziert man die Blutgruppen A, B und 0. Bei Vorliegen der Blutgruppe AB tritt keine Agglutination der Testerythrozyten auf, da beim AB-Eluat die Agglutinine α und β fehlen.

Fehlerquellen der klassischen Methoden

1. Wenn wenig Spurenmaterial vorhanden ist oder wenn ein stark abgeschwächtes Antigen vorliegt, kann nach der Absorption die Titerabschwächung so gering sein, daß sie sich nicht bemerkbar macht oder nicht verwertbar ist.

2. Es können unspezifische Agglutinationen auftreten, bedingt z. B. durch Panagglutination in der Kälte oder durch irreguläre Antikörper.

3. Es besteht die Möglichkeit, daß die in den Blutflecken vorhandenen Isoagglutinine bei der Behandlung mit Testserum herausgelöst werden und das Ergebnis verfälschen. Faraone empfiehlt deshalb, die Isoagglutinine durch Erhitzen des Spurenmaterials auf 70 - 80 °C unwirksam zu machen.

4. Verunreinigungen der Blutspur vermögen die Reaktion durch eine unspezifische Absorption empfindlich zu stören. U. a. können bakterielle Verunreinigungen zu Fehlergebnissen führen.

5. M- und N-Bestimmungen erlauben in der Regel bei negativem Ergebnis keine Rückschlüsse auf das Vorhandensein oder Fehlen eines dieser Faktoren.

6. Das Verfahren nach Lattes versagt häufig.

B Neuere Untersuchungsmethoden

1. Untersuchungen von Coombs, Bedford und Rouillard

Eine Mischagglutination wurde erstmals im Jahre 1939 von Wiener und Herman beobachtet (Pneumokokken vom Typ XIV besitzen ein Antigen, das an menschlichen Erythrozyten ebenfalls vorkommt; die Bakterien ließen sich somit durch das entsprechende Antiserum mit menschlichen roten Blutkörperchen verbinden). Coombs und Mitarbeiter beschrieben im Jahr 1956 bei ihren Forschungen über die Hauttransplantation eine Methode, mit der sie A- und B-Blutgruppenantigene der Haut des Spenders und des Empfängers erfaßten. Diese Methode nannten

sie "mixed agglutination". Im Gegensatz zu den klassischen Verfahren handelt es sich dabei um eine additive Methode. Es wird nicht der Antikörperanteil bestimmt, der nicht absorbiert wurde, sondern die Menge des gebundenen Antikörpers. Coombs ging von der Überlegung aus, daß die Epidermiszellen eines jeden Menschen Antigene als sogenannte Receptoren besitzen. Diese blutgruppenspezifischen Antigene - angenommen, sie waren bivalent - mußten in der Lage sein, mit Testerythrozyten zu reagieren. Coombs stellte zur Bestätigung seiner Annahme folgenden Versuch an: Er behandelte Epidermiszellen mit Antikörperlösungen Anti-A sowie Anti-B und beobachtete dann, daß sich gruppengleiche Erythrozyten und Epidermiszellen tatsächlich miteinander verbinden ließen.
Abb. 1 diene zur Erläuterung.

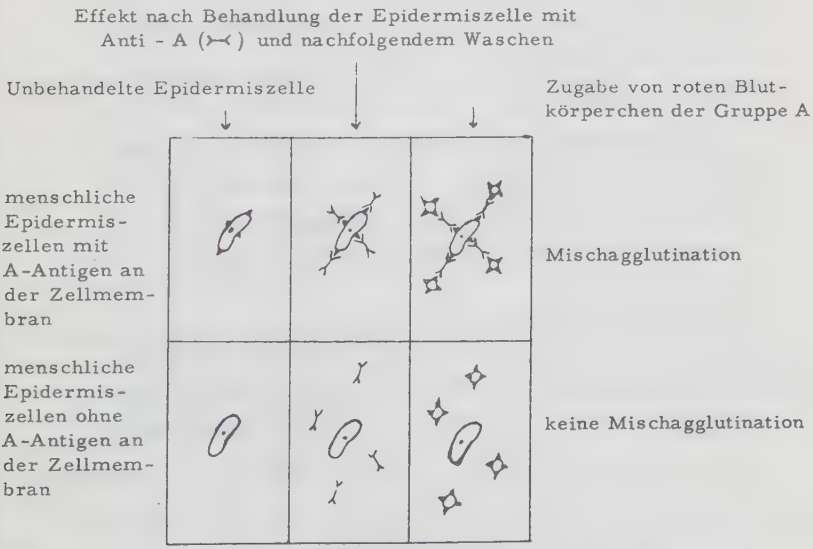

Abb. 1: Gemischte Erythrozyten-Epidermiszell-Agglutination zur Aufdeckung des A- und B-Antigens an den Epidermiszellen menschlicher Haut. Schematische Darstellung.
(Coombs, Bedford und Rouillard)

2. Das Verfahren von Kind

Kind veröffentlichte 1960 zwei Arbeiten über eine Blutgruppen-Absorptionselution aus getrockneten Blutausstrichen und getrockneten Blutflecken auf Textilien. Er läßt das Testserum 2 - 3 Stunden auf das Substrat einwirken. Nach der Absorption wird der Rest des Serums ausgewaschen und dann bei 50 °C der Agglutininabsprengungsversuch vorgenommen. Die abgesprengten Agglutinine werden mit 1 - 2 %igen Blutkörperchenaufschwemmungen getestet. Wenn Blutkörperchen der Gruppe A agglutiniert werden, so liegt die Blutgruppe A im Blutfleck vor, wenn Blutkörperchen der Blutgruppe B agglutiniert werden, gilt entsprechendes. Werden sowohl A- als auch B-Blutkörperchen agglutiniert, handelt es sich um die Blutgruppe AB. Ein Blutfleck der Gruppe 0 absorbiert weder Anti-A noch Anti-B, so daß diese Antikörper beim Waschen wieder vollständig entfernt werden. Der Agglutininabsprengungsversuch verläuft dann negativ und damit ist auch der Test mit den Erythrozyten negativ. Kind gibt bei seinem Verfahren als Vorteile an:

a) es ist kein Antiserum mit standardisiertem Titer erforderlich
b) Reinigungsmittel beeinflussen die Bestimmung nicht
c) die Ergebnisse können relativ schnell abgelesen werden ohne Pipettieren und mikroskopische Untersuchungen

Der Autor beschreibt in seinen Arbeiten zum ersten Mal eine neue Methode zur AB-Bestimmung. Der Blutfleck wird vor der Untersuchung durch Erhitzen denaturiert. Hierdurch wird die Reaktionsfähigkeit des Spurenmaterials erheblich eingeschränkt.

3. Das Verfahren von Coombs und Dodd

Die Autoren bestimmen sowohl AB0 als auch H in blutbefleckten Textilien. Der Test wird folgendermaßen durchgeführt:

a) Vorbereitung der Blutspur. Blutbefleckte Stoffstücke oder Fasern bis zur Durchführung der Gruppenbestimmung bei Zimmertemperatur aufbewahren. Fasern und Stoffstücke auf 0,2 mm Länge zuschneiden und in Glasröhrchen verbringen. Anhaftendes Material mit Formalin oder Alkohol fester an die Fasern binden. Zur vollständigen Hämolyse der Blutkörperchen 2 %ige Lösung von Essigsäure mit Kristallviolett zusetzen. Nach der Vorbehandlung waschen der Fasern durch Zentrifugieren mit Lösungsmittel (hitzeinaktiviertes, mit Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 200 verdünntes Kaninchenserum). Der Zweck der Anwendung des Lösungsmittels ist die Verhinderung des Anklebens der Fasern am Glas.

b) Behandlung mit Antiserum. Fasern mit 0,1 ml Antiserum versetzen und zwischen 1 und 24 Stunden bei Zimmertemperatur unter leichtem Kippen und Drehen inkubieren. Es werden immune A- und B-Seren verwendet, das Anti-H ist ein pflanzliches Lecitin, das als Salzextrakt aus Ulex Europaeus bereitet wird. Alle Antiseren sind vor Benutzung 30 Minuten auf 56° C zu erhitzen.

c) Auswaschen der ungebundenen Antikörper.

Fasern 3 mal zur Entfernung freier Antikörper mit physiologischer Kochsalzlösung waschen.

d) Agglutinationsprüfung mit der Testsuspension.

Indikatorblutkörperchen (1 %ige Aufschwemmung) zufügen. Aufschwemmung entweder in physiologischer Kochsalzlösung oder zusätzlich in 1 %iger Rinderalbuminlösung zubereiten. 2 Tropfen der Erythrozytensuspension in 5 x 10 mm große,

siliconbehandelte Glasröhrchen geben, zentrifugieren und dann die gewaschenen Fasern in die Gläschen bringen, wieder zentrifugieren, um die Fibrillen mit den Blutkörperchen möglichst gut zu verbinden. Einen weiteren Tropfen Indikatorblutkörperchen einbringen und nochmals zentrifugieren. 1 ml Verdünnungsmittel in jedes Röhrchen nachfüllen, leicht kippen und Fasern zur Begutachtung entnehmen. Ablesen des Ergebnisses unter dem Phasenkontrastmikroskop bei 100 - 440 facher Vergrößerung.

Zur H-Bestimmung Testblutkörperchen mit Papain behandeln. Es wird eine Mischung aus 1 Teil gewaschener Erythrozyten, 1 Teil Kochsalzlösung und 2 Teilen Löw's Papain zubereitet. Die Mischung wird bei 37 °C für 15 Minuten inkubiert, zweimal gewaschen und in 1 %iger Verdünnung angesetzt. Siliconbehandelte Glasgefäße sollen die Fasern am Ankleben hindern. Coombs und Dodd führen erstmals eine H-Bestimmung mit Laburnumextrakt durch und diagnostizieren die Blutgruppe 0 im Direktverfahren.

4. Modifikation von Nickolls und Pereira

Nickolls und Pereira besprechen in ihrer Veröffentlichung sowohl das Verfahren von Kind als auch das von Coombs-Dodd. Sie weisen darauf hin, daß diese Methoden für ein routinemäßiges Arbeiten zu kompliziert seien und schlagen deshalb eine Vereinfachung vor, die im wesentlichen nicht vom Verfahren der Genannten abweicht. Sie lassen lediglich die Behandlung der Fasern mit Kristallviolett und mit inaktiviertem Kaninchenserum weg, ohne das Ergebnis dadurch zu mindern. Andrerseits erwähnen sie zum ersten Mal die Möglichkeit, mit dieser Untersuchungsmethode auch die MN-Faktoren und

den D-Faktor des Rhesusblutgruppensystems zu bestimmen. Die Autoren empfehlen ihre Methode als Kontrolle zur klassischen Blutgruppenbestimmung bzw. für Fälle mit geringem Spurenmaterial, bei denen die herkömmliche Absorptionsmethode versagt.

5. Das Verfahren von Budvàri

Die 1962 veröffentlichte Untersuchungsmethode von Budvàri beruht auf der Mischagglutination von Coombs und besteht aus zwei Abschnitten: Bindung der Agglutinine an die Zellrezeptoren und Absprengungsversuch mit Bestimmung der eluierten Agglutinine.

a) Untersuchungsgang:

Es sind hochtitrige Immunseren zu verwenden und zwar Anti-A und Anti-B mit einem Titer von 1 : 128 und Anti-M und Anti-N mit einem Titer von 1 : 32 bis 1 : 64. Blutgetränktes Stoffstück mit Zupfnadeln fein auffasern. Es genügt ein kleines, 4 - 5 mg Blut enthaltendes Gewebestück oder eine entsprechende Blutkruste. Der Stoff kann 15 Minuten in Methanol fixiert werden. Zerzupfte Fasern in kleine Hohlobjektträger legen. 1 - 2 Tropfen Testserum zufügen. Die bedeckten Objektträger zur Bestimmung des AB0-Systems 12 Stunden im Kühlschrank bei + 4 °C inkubieren, zur MN Untersuchung bei Zimmertemperatur 2 - 4 Stunden stehen lassen. Nach der Inkubation Fasern mit physiologischer Kochsalzlösung 3 - 4 mal gründlich waschen, um die nicht gebundenen Agglutinine zu entfernen. Das Spülwasser durch Zugabe einer Blutkörperchensuspension auf Vorhandensein der Agglutinine prüfen. Nach dem letzten Spülen und Absaugen 1 - 2 Tropfen physiologische Kochsalzlösung auftropfen und 20 Minuten bei 56 °C im Brutschrank eluieren. Anschließend eine 1 %ige Blutkörperchensuspension in 1 % Albumin enthaltender physiologischer Koch-

salzlösung herstellen. Zur AB0-Bestimmung das Blut absaugen, in 9 x 5 mm große Röhrchen einfüllen, einen Tropfen einer homologen Erythrozytensuspension zufügen und Röhrchen 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen. Anschließend 1 Minute bei 1000 U/min. zentrifugieren und das Sediment mit einer Pipette auf einen Objektträger ausbreiten. Agglutination sofort ablesen. Beim MN-System Erythrozytensuspension gleich mit dem Eluat im Hohlobjektträger vermischen und 45 Minuten bei Zimmertemperatur belassen. Zum Ablesen der Agglutination Hohlobjektträger leicht bewegen und die Fasern behutsam entfernen. Bestimmung des D-Antigens : Das mit inkomplettem Anti-Rh-Testserum imprägnierte Stoffstück im Brutschrank bei 37 °C 1 Stunde lang inkubieren. Nach dem Waschen für 15 Minuten bei 56 °C im Brutschrank eluieren.

Ergebnisse: Das Alter der Spuren, die Budvári untersuchte, betrug 1 Tag bis 3 Monate. Der Autor gibt an, daß 2 - 3 mg Trockenblut für eine Antigenbestimmung ausreichen und daß die Spezifität der Reaktion durch wiederholte Elutionen kontrolliert werden kann. In der Regel sei pro Blutgruppenmerkmal eine Trockenblutmenge von 2,5 mg ausreichend.

b) Das Verfahren von Budvári und die klassischen Methoden

Bei Anwendung der klassischen Methoden benötigt man relativ viel Spurenmaterial. Wenn weniger als 10 mg Trockenblut zur Verfügung stehen, läßt sich eine Untersuchung schwer durchführen. Das Budvárische Verfahren ermöglicht eine sichere Diagnose schon mit 0,5 - 1 mg Trockensubstanz.

c) Praktische Anwendung

Über Erfolge bei der praktischen Anwendung der Mischagglutination berichten Maresch und Wehrschütz. Sie erläutern die AB-, MN - und H-Diagnostik. Über ihre Versuche zur Rh-Bestimmung äußern sie sich skeptisch. Sie verzichten bewußt auf das Eluieren, denn nach ihrer Meinung stellen die Blutkörperchen, wenn sie an den Stoffasern haften, bei der mikroskopischen Betrachtung ein positives Ergebnis deutlicher dar als abgesprengte Agglutinate.

II Eigene Untersuchungen

A Untersuchung von Blutspuren nach Budvàri

Spurenmaterial

Wir untersuchten Blutflecken bekannter Gruppenzugehörigkeit, die wir auf Leinen aufgetragen hatten. Den Stoff bewahrten wir im Dunkeln bei Zimmertemperatur auf.

1. a) Untersuchungsgang für ABH

Untersuchungsgang im einzelnen

Wir verwendeten Testseren der Firmen Asid, Behringwerke und Molter mit einem Titer von 1 : 128, ferner Phytagglutinine der Firmen Asid und Biotest.

Mit den Phytagglutininen prüften wir die Unterscheidungsmöglichkeit von A_1 und A_2, weiterhin versuchten wir, die H-Substanz durch die Mischagglutination zu erfassen (Coombs-Dodd, Nickolls-Pereira, Maresch-Wehrschütz).

Die Testseren ließen wir 12 - 24 Stunden teils bei 4° C, teils bei Zimmertemperatur einwirken. Zum Vergleich untersuchten wir stets Leerproben mit. Ferner testeten wir die Blutflecken außer mit Serum auch mit physiologischer Kochsalzlösung.

Nach mindestens 4-maligem Waschen setzten wir die Testblutkörperchensuspension in 2 %iger Verdünnung zu (Kind). Wir verwendeten jeweils frisch zubereitete Aufschwemmungen der Blutgruppen A_1, A_2, B und 0 sowie Rinderalbumin der Firma Biotest.

1 1/2 - 2 Stunden nach Absprengung der Agglutinine beobachteten wir eine maximale Agglutination der Testerythrozyten (Pereira). Im allgemeinen lasen wir die Reaktion auf dem Objektträger ab. Nur im Zweifelsfall pipettierten wir das Blut ab und zentrifugierten, wobei wir immer zum Vergleich eine frische Blutkörperchensuspension mit zentrifugierten. Unter dem Mikroskop prüften wir die Testblutkörperchen ebenfalls nur nach unklarem Resultat bei direkter Ablesung.

b) Ergebnisse

Wir untersuchten Blutspuren mit einem Alter von 1 Tag bis zu 22 Monaten und führten mehr als 350 ABH-Untersuchungen durch. Das Alter beeinflußte die Reaktionen unwesentlich. Ausschlaggebend für den Erfolg war nach unseren Beobachtungen in erster Linie die Benutzung geeigneter Testseren.
A- und B-Seren der Firmen Asid und Behringwerke führten zu guten Agglutinationen, aber mit den Seren Molter-forte verzeichneten wir noch deutlichere Agglutinationen.
Inkubationszeit und Inkubationstemperatur beeinflussen das Ergebnis nicht nennenswert. Die Testblutkörperchen müssen jeweils frisch zubereitet werden.
Die Fixierung der Blutspur mit Alkohol hatte eine Abnahme der Agglutination zur Folge. Deshalb verzichteten wir auf die von Coombs-Dodd und Budvàri vorgeschlagene Behandlung mit Alkohol.

Beispiele aus unserem Untersuchungsmaterial

Tabelle 1

Untersuchung von Leerproben

Unbefleckter Stoff	+	Serum (A-Serum, bzw. B-Serum)	=	A -	B -
Blutspur A_2B	+	Kochsalzlösung	=	A -	B -
Blutspur A_2B	+	Serum (A-Serum, bzw. B-Serum)	=	A ++	B +

Bei Leerproben sahen wir nie eine Agglutination, führten diese Untersuchungen aber durch, da bakterielle Verunreinigungen gelegentlich einen positiven Befund vortäuschen könnten.

Tabelle 2

Einfluß von Blutalter und Testserum auf die Agglutination

Lfd. Nr.	Blutgruppe	Alter (Monate)						Serum						abgelesen					
1	A_1B	1/15	1/2	6	8	9	22	As	Be	Be	As	Be	Mo	A ++	++	+	(+)	-	- +
														B +	+	+	(+)	(+)	+
2	B	1/15	1/2	3	8	9	22	Be	Be	Be	As	Be	Mo	A -	-	-	-	-	-
														B ++	+ +	-	(+)	-	+
3	A_1	1/15	1/2	2	8	9	22	Be	Be	Be	As	Be	Mo	A ++	++	+	+	++	+ +
														B -	-	-	-	-	-
5	A_2	1/2	2	4	6	9	22	Be	Mo	Be	As	Be	Mo	A ++	+	+	+	+	++
														B -	-	-	-	-	-
12	A_2B	1/2	2	3	6	9	22	Be	Mo	Be	As	Be	Mo	A +	+	+	+	-	++
														B +	+	+	(+)	-	+

As : Serum des Asid-Institutes

Be : Serum der Behringwerke

Mo : Serum von Molter

Agglutinationsstärken: ++ Flockung

\+ deutliche Agglutination

(+) gerade noch erkennbare Agglutination

Tabelle 3

Einfluß der Alkoholfixierung auf die Agglutination

Lfd. Nr.	ohne Methanol	mit Methanol	Serum	Blutgruppe
43	A - B -	A - B -	Molter	0
44	A - B ++	A - B +	Molter	B
45	A ++ B -	A + B -	Molter	A_2
46	A ++ B -	A + B -	Molter	A_1

Untersuchungsergebnisse mit Phytagglutininen

Von den Phytagglutininen zeigte der aus Trockensubstanz zu lösende Laburnumextrakt von Biotest deutlichere Agglutinationen als die gebrauchsfertige Lösung (Asid und Biotest).
Mit dem Phytagglutinin von Asid erreichten wir im allgemeinen nur schwache Agglutinationen. Die Testblutkörperchen behandelten wir nicht mit Papain.
Wir diagnostizierten sowohl die Blutgruppe 0 mittels einer Agglutination und konnten manchmal die Gruppe A_2 von A_1 unterscheiden.
Bei Vorliegen der Gruppe A_1 und der Kombination A_1B stellten wir in keinem Fall eine Agglutination fest. Bei den untersuchten Leerproben bemerkten wir nie eine Verklumpung der Testblutkörperchen.

Nachweisgrenzen

Aus den Blutflecken unserer Sammlung stanzten wir mit einem Locher runde Scheibchen heraus, ebenso aus dem unbefleckten Leinen. Als Gewichtsdifferenz ergab sich 1 mg im Durchschnitt. Zunächst untersuchten wir die ganze Blutmenge, den Stoff hatten wir vorschriftsmäßig zerfasert. Später verringerten wir diese und fanden verwertbare Ergebnisse noch bei Untersuchung von 0,25 - 0,5 mg Trockenblut.
Bei 150 Untersuchungen mit A- und B-Seren verzeichneten wir 10 Fehlergebnisse. Diese sind unseres Erachtens darauf zurückzuführen, daß wir anfangs zu wenig gewaschen hatten und unsere Testblutkörperchen nicht immer frisch waren.
Es ist auch zu beachten, daß die Blutgruppe B immer schwächer erscheint als die Gruppe A, besonders in der Kombination AB.
Bei 108 Untersuchungen mit Phytagglutininen trafen wir folgende Feststellungen:

Insgesamt handelte es sich um

4 Proben der Gruppe A_1B	=	keine Agglutination
24 Proben der Gruppe A_1	=	keine Agglutination
4 Proben der Gruppe A_2B	=	3 Agglutinationen
16 Proben der Gruppe B	=	3 Agglutinationen
20 Proben der Gruppe A_2	=	15 Agglutinationen
40 Proben der Gruppe 0	=	36 Agglutinationen

Davon wurden mit Laburnumextrakt, den wir aus Trockensubstanz selbst herstellten

2 Proben der Gruppe A_1B	=	keine Agglutination
12 Proben der Gruppe A_1	=	keine Agglutination
2 Proben der Gruppe A_2B	=	2 Agglutinationen, +, (+)
8 Proben der Gruppe B	=	1 Agglutination
11 Proben der Gruppe A_2	=	8 Agglutinationen, 4+, 4 (+)
26 Proben der Gruppe 0	=	23 Agglutinationen +, 2 (+)

und mit gebrauchsfertigem Laburnumextrakt von Biotest bzw. Asid

2 Proben der Gruppe A_1B	=	keine Agglutination
12 Proben der Gruppe A_1	=	keine Agglutination
2 Proben der Gruppe A_2B	=	1 Agglutination (+)
8 Proben der Gruppe B	=	2 Agglutinationen +, (+)
9 Proben der Gruppe A_2	=	5 Agglutinationen +, (+)
14 Proben der Gruppe 0	=	3 Agglutinationen +, (+)

untersucht.

Die Blutgruppe 0 ließ sich fast immer mit Laburnumextrakt nachweisen. Es genügte eine Trockenblutmenge von 0,25 - 0,5 mg. Die Blutgruppe A_2 konnte in 2/3 der Fälle erfaßt werden. Die Blutgruppe A_2B zeigte ebenfalls Reaktionen mit Laburnumextrakt, weniger dagegen die Blutgruppe B. In keinem Fall sprachen A_1B und A_1 auf Lectine an.
Weder bei der Untersuchung mit Immunseren noch mit Phytagglutininen konnten wir die von Budvâri erwähnte Spezifität der Reaktion mittels der wiederholten Elution prüfen.

2. Untersuchungsgang für MN

a) Untersuchungsgang im einzelnen

Wir benützten absorbierte Rohseren der Firmen Asid (M-Serum Nr. 1890, N-Serum Nr. 1667), Behringwerke (M-Serum Nr. 1505, 1528, N-Serum Nr. 1734, 2042, 1687), Biotest (N-Serum Nr. 2205) und Molter (M-Serum Nr. 2920, 1134, N-Serum Nr. 1135, 2858). Sie wiesen durchschnittlich eine Titer von 1 : 64 auf. Das Spurenmaterial inkubierten wir zwischen 2 und 24 Stunden teils bei 4° C, teils bei Zimmertemperatur.
Der weitere Untersuchungsgang ist unter 1 a) beschrieben.

b) Ergebnisse

Es wurden Blutspuren mit einem Alter von 1 Tag bis zu 22 Monaten untersucht. Insgesamt führten wir 128 Bestimmungen durch. Das Ergebnis wird wesentlich von der Qualität der Testseren beeinflußt. Eine Verlängerung der Inkubationsdauer von 2 - 4 auf 12 - 24 Stunden brachte deutlichere Agglutinationen. Außerdem hatte sie den Vorteil, die ABH- und MN-Bestimmungen in einem Arbeitsgang vornehmen zu können. Brauchbare Ergebnisse erhielten wir mit den Testseren Behringwerke (M-Serum Nr. 1568) und Molter (M-Serum, Nr. 1134, 2920, N-Serum Nr. 1135, 2858).

In einigen Fällen wurde eine Abnahme der Agglutination mit zunehmendem Alter der Blutspur festgestellt. Wichtig ist es, darauf zu achten, stets frische Testerythrozyten zu verwenden. Um jede Fehlermöglichkeit auszuschließen, benutzten wir Erythrozyten mit den Eigenschaften 0/M und 0/N (Lauer).

Die Agglutination ist zu erkennen wenn der Objektträger nach 2 Stunden vorsichtig gekippt wird. Durch Rotation kann eine schwache Agglutination verwischt und übersehen werden.

Nachweisgrenze

Auch bei der M/N-Diagnostik lag die Nachweisgrenze bei 0,25 - 0,5 mg Trockenblut.

Beispiele aus unserem Untersuchungsmaterial

Tabelle 4

Untersuchung von Leerproben

Unbefleckter Stoff	+	Testserum anti-M bzw. anti-N	= M - N
Blutspur MN	+	Kochsalzlösung	= M - N
Blutspur MN	+	Testserum anti-M und anti-N	= M + N

Tabelle 5

Untersuchung von Blutspuren mit dem Faktor M

Insgesamt 41 Untersuchungen, davon

mit positivem Befund	= 33
ohne Agglutination	= 1
Agglutination sowohl mit anti-M als auch mit anti-N	= 8

Bei Spuren des Blutfaktors M bemerkten wir keinen Einfluß des Alters auf die Agglutinationsstärke.

Wir untersuchten insgesamt
mit positivem Befund
ohne Agglutination
Agglutination auch mit anti-M

Bei Spuren mit dem Faktor N kann in einigen Fällen eine Verminderung der Agglutination usw. ein negatives Ergebnis der Untersuchung mit zunehmendem Alter der Spuren sein.

Der Faktor M zeigte durchschnittlich stärkere Agglutinationen als N. In der Kombination MN war M im allgemeinen zwar stärker als N, aber schwächer als M allein. Bei 41 Untersuchungen von M-Blutflecken hatten wir 6 mal auch mit anti-N eine Agglutination.

Auf diese Möglichkeit wies bereits Pereira hin.

Dahr und Kindler teilten mit, daß sich von menschlichen M-Blutkörperchen nach Vorbehandlung mit spezifischem anti-N-Serum erhebliche Mengen von anti-N-Agglutinin absprengen lassen (Prokop).

Uhlenbruck beobachtete, daß M-Substanz, welche durch proteolytische Fermente aus 0/MM-Blutkörperchen dargestellt wurde, gleichzeitig N-Aktivität aufwies.

Allen, Corcoran und Ellis nehmen an, daß die M-Gene eine kleine Menge N-Antigen oder ein Antigen, das mit N-Antikörpern eine Kreuzreaktion eingeht, bilden. Sie betonen aber, daß dadurch die Verwertbarkeit der Befunde korrekt durchgeführter MNS-Bestimmungen bei Frischblut nicht geschmälert wird.

Es ist jedoch denkbar, daß die N-Reaktionen von M-Blutflecken mit diesem Phänomen in Zusammenhang stehen. Andrerseits ergab sich bei 31 Untersuchungen von N-Blutflecken 4 mal auch eine Agglutination mit anti-M-Serum (s. Tab. 5).

Aufgrund dieser Ergebnisse ist die MN-Bestimmung aus Flecken in der gerichtsmedizinischen Praxis mit Vorsicht zu verwerten.

Untersuchungsgang für CDE

a) Untersuchungsgang im einzelnen

Die Untersuchung wurde mit inkompletten anti-D-Seren von Biotest und inkompletten Coombs-human-Seren anti-C, anti-D und anti-E nach den Angaben von Budvári durchgeführt.

b) Ergebnisse

Insgesamt untersuchten wir 50 Blutspuren mit dem Serum von Biotest und 30 Spuren mit den Coombs-Seren.

In keinem Fall gelang es uns, die Faktoren CDE durch Agglutinationen nachzuweisen.

B Untersuchung von verschmutzten Blutspuren

1. Untersuchung verschmutzter Blutspuren auf Leinen

Um zu prüfen, inwieweit Blut auf pflanzlichem Gewebe die Methode der Mikroagglutination stören, insbesondere auf Leinen (Heu-, Gras- und Pflanzenextrakt) haften würde, wurde Blut verschmutzt auf Leinen an. Die Leinenproben zeigten nur eine schwach positive Benzidinreaktion.

Ergebnis: Die Mikroagglutination bei Heu- und Grasblutspuren auf Stoff verlief negativ. Die Blutgruppen in den verschmutzten Spuren ließen sich ohne Beeinträchtigung bestimmen, ebenso die Untersuchung von Mi in den Proben ergaben sich die bereits erwähnten Schwierigkeiten.

2. Untersuchung von Blutspuren in Erde

a) Abtrennung grober Verschmutzungen:

Erdproben verschiedener Beschaffenheit, denen wir Blut in geringer Menge zusetzten, wurden zunächst aufgeschwemmt. Als Lösungsmittel diente destilliertes Wasser, physiologische Kochsalzlösung, Methanol, Äthanol und Azeton. Die Aufschwemmung füllten wir in einen Glastrichter, der eine 2 - 3 cm dicke Watteschicht enthielt. Dabei blieben in der Watte alle gröberen Beschmutzungen zurück, während das Blut und die feinsten Verunreinigungen unter geringender Zugabe von Lösungsmittel das Filter passierten. Ein nennenswerter Verlust an Spurenmaterial durch Haften von Blut am Filter konnte bei Vergleichsuntersuchungen nicht beobachtet werden.

Eindampfung des Filtrates:

Das Filtrat wurde dann im Vakuum - Exsikkator auf Strahlpelche eingeengt und schließlich auf Stoff (Leinen) angetrocknet.

Ergebnisse:

Als Lösungsmittel für die Aufschwemmung eignen sich Wasser und physiologische Kochsalzlösung. Weniger geeignet erwiesen sich bei unseren Versuchen Alkohole und Azeton. Durch letztere werden die Blutgruppensubstanzen eventuell ausgefällt und bleiben an gröberen Schmutzbestandteilen oder in der Watte hängen. Es wäre ferner denkbar, daß die Blutgruppensubstanzen durch die Vorbehandlung mit Alkohol in ihrer Aktivität geschwächt werden. Diese Vermutung wird durch die Mitteilung von Hohorst gestützt, der eine Inaktivierung der M- und N-Rezeptoren nach Behandlung mit Alkohol und Azeton feststellte. Die von uns beobachtete Abnahme der Agglutinationen nach Anwendung von Methanol zur Fixierung der Blutspuren (Budvàri) ließe sich damit in Einklang bringen.

Die Mischagglutination führte zu befriedigenden Ergebnissen. Feine Schmutzteilchen, welche das Wattefilter passiert hatten, störten die Untersuchung nicht.

b) Versuche zur Anreicherung von Blut mit Filterpapierstreifen

Angeregt durch die Arbeiten von Schaidt und Klose über die Reinigung von Blutspuren durch Auftrennung der gelösten Substanzen in Filterpapierstreifen, haben wir ähnliche Versuche durchgeführt, um Blutspuren aus Erde zu isolieren oder zumindest anzureichern.

1 - 2 Tropfen Blut wurden im Reagenzglas mit 1,5 - 2 ml destilliertem Wasser hämolysiert. In die Gläschen hängten wir Filterpapierstreifen (Ederol 202) von ca. 0,7 cm Breite, die in die Flüssigkeit eintauchten und durch eine Verbreiterung des Papiers auf dem Gläschenrand gehalten wurden. Das Ende des etwa 1 cm überragenden Filterpapierstreifens wurde gezackt (Marcinkowski). Hierdurch

wird eine stärkere Konzentrierung in der Verdunstungszone erzielt. Trennung und Anreicherung konnten im Brutschrank (40 °C) beschleunigt werden. Gleiche Versuche unternahmen wir mit Extrakten aus Humus und Pflanzen ohne Beimengung von Blut.

Ergebnisse:

Stark verdünnte Blutlösungen können mit Filterpapierstreifen angereichert werden. Ein geringer Verlust an Spurenmaterial tritt jedoch auf, weil auch außerhalb der Verdunstungszone etwas Blut am Papier haften bleibt. Außerdem stellten wir fest, daß ein Teil der gelösten Erd- und Pflanzenbestandteile wie Blut bis zum Ende der Papierstreifen aufsteigt. Eine vollständige Reinigung erdverschmutzter Blutproben läßt sich somit mit diesem Verfahren nicht in jedem Falle herbeiführen.

Auch Streifen aus anderem Material z. B. Leinen, Batist, Perlon und Seide ergaben keine bessere Trennung. Zudem war ihre Saugfähigkeit geringer als die des Filterpapiers.

Nachdem die Filterpapierstreifen getrocknet worden waren, untersuchten wir sie mit der Mischagglutinations-Methode. ABH-Antigene ließen sich gut nachweisen. Auch die Feststellung von MN gelang in einigen Fällen.

Das Auswaschen des Serums aus Filterpapier bereitet gewisse Schwierigkeiten. Als Folge beobachteten wir selbst bei der Untersuchung von Leerproben trotz 4 - 5maligem Waschen manchmal schwache Agglutinationen der Testblutkörperchen. Bei noch intensiverem Waschen ließen sich die freien Antikörper zwar entfernen, andererseits nahm aber auch die Intensität der Agglutination anhaftender Blutspuren ab.

Nachweisgrenze:

Zum hinreichend sicheren Nachweis benötigten wir als Mindestmenge für die ABH-Bestimmung 4 - 6 mg Trockenblut.

c) Versuche, gelöstes Blut auf Keramikstäbchen zu konzentrieren

Wegen der vereinzelten Fehlergebnisse, die bei der Verwendung von Filterpapier als Spurenträger auftraten, versuchten wir, Blutlösungen auf unglasierte Keramik anzureichern. Zu diesem Zwecke stellten wir uns 10 x 0,5 x 0,3 cm große Keramikstäbchen her. Am Ende der Stäbchen wurde vor dem Brennen ein Abstand von je 0,5 cm mit zwei Einkerbungen versehen, um nach der Anreicherung in einfacher Weise zwei gleichgroße Stücke des Spurenträgers für die Mischagglutination abtrennen zu können. Die Anreicherung führten wir in Venülengläschen durch, welche etwa zur Hälfte mit Untersuchungsmaterial (wässerige, erdverschmutzte Blutlösungen) gefüllt waren. In die Flüssigkeit stellten wir ein Keramikstäbchen, dessen ungekerbter, die Lösung überragender Teil zur Beschleunigung der Verdunstung des Lösungsmittels durch einen Heizdraht elektrisch erwärmt wurde. Blut und kleine Schmutzpartikelchen trockneten an der Oberfläche der Stäbchen an. Die Untersuchung erfolgte nach Verbringen der abgebrochenen Stücke der Stäbchen in Testserum in der üblichen Art und Weise. Leer- bzw. Erdproben ohne Blutbeimengung riefen keine, anhaftendes Blut dagegen deutliche, den vorhandenen Antigenen gemäße Agglutinationen hervor. Für ein einwandfreies Ergebnis benötigten wir etwas geringere Blutmengen als bei der Blutanreicherung auf Filterpapierstreifen.

d) Versuche zur Reinigung von Blutspuren mittels Chromatographiesäule, Dünnschichtplatte und Agar-Diffusion

Blutlösungen vermischt mit Erde verschiedener Beschaffenheit wanderten in der Chromatographiesäule (Füllung: 1. Aktives, neutrales Aluminiumoxyd Merck, 2. 1%ige gepufferte Lösung von Bacto-Special Noble Agar) und auf der Dünnschichtplatte (belegt mit Kieselgel G nach Stahl, und Aluminiumoxyd G nach Stahl, Hersteller Fa. Merck) in breiten Zonen, ohne sich genügend voneinander abzutrennen.

III Zusammenfassung

Nach Besprechung der klassischen Nachweismethoden zur Blutgruppen- und Faktorenbestimmung aus eingetrockneten Blutspuren wird auf die neueren Untersuchungsverfahren eingegangen. Im experimentellen Teil der Arbeit wurden zunächst die Möglichkeiten der Blutfleckendiagnostik nach der Mischzellenagglutination in der von Budvári beschriebenen Modifikation überprüft. Der Nachweis von ABH-Antigenen in Blutspuren gelang noch mit hinreichender Sicherheit bei einer Trockenblutmenge von 0,25 - 0,5 mg auf Stoff (Leinen) und 4 - 5 mg auf Filterpapier, während die MN-Bestimmung auch in größeren Blutflecken, insbesondere bei vorheriger Alkoholfixierung, unsicher war. Rh-Merkmale konnten wir nicht diagnostizieren. Die Stärke der Agglutination, die bei unseren Untersuchungen auftrat, hing wesentlich von der Qualität der Testseren und von der Benutzung frischer Erythrozyten ab; dagegen wirkte sich das Alter der Blutspuren (1 Tag bis 22 Monate) auf die Intensität nicht nennenswert aus. Weiterhin wurden verschiedene Verfahren zur Reinigung und Konzentrierung von Blutspuren, welche in Erde und pflanzlichen Extrakten enthalten waren, angewendet. Eine vollständige Trennung des Spurenmaterials gelang bei stärkeren Verunreinigungen nicht. Das Blut ließ sich jedoch in den meisten Fällen so weit einengen, daß die Mischzellenagglutination erfolgreich durchgeführt werden konnte. Das Vorhandensein geringer Mengen Schmutz- und Pflanzenbestandteile beeinträchtigte die Feststellung der Blutgruppeneigenschaften nicht.

IV Literaturverzeichnis

1. Allen, F.H., P.A.Corcoran and F.R.Ellis: Some new observations on the MN system. Vox Sang. 5, 224 (1960).

2. Bayer, M.E.: Elektronenoptische Untersuchungen an der Membran des Erythrozyten. Pflüger's Archiv 270, 323 (1960).

3. Beckman, L.: Effect of phytohaemagglutinin on human serum and cell proteins. Nature 195, 582 (1962).

4. Bhathia, H.M., and F.H.Allen: "Non-specific" seed agglutinins and blood group specifity. Vox Sang. 7, 83 (1962).

5. Boyd, W.C.: The lectins. Their present status. Vox Sang. 8, 1 (1963).

6. Boyd, W.C., and L.G.Boyd: Blood grouping in forensic medicine. J.Immunol. 33, 159 (1937).

7. Boyd, W.C., and E.Shapleigh: Antigenic relations of blood group antigens as suggested by tests with "lectins". J.Immunol. 73, 226 (1954).

8. Boyd, W.C., and E.Shapleigh: Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). Science 119, 419 (1954).

9. Boyd, W.C., and E.Shapleigh: Separation of individuals of any blood group into secretors and non-secretors by use of a plant agglutinin (lectin). Blood 9, 1195 (1954).

10. Boyd, W.C., and E.R.Warhaver: Serological relationsship of blood group A and B antigens; production of anti-B-precipitins. J.Immunol. 50, 101 (1945).

11. Brahn, B., and F.Schiff: Über die komplexe Natur der Blutgruppensubstanz A des Menschen. Klin. Wschr. 5, 1455 (1926).

12. Budvâri, R.: Über eine neue Methode der Blutgruppenuntersuchungen in Blutflecken mittels Agglutininelution. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 54, 24 (1963).

13. Constantonlakis, M., and H.E. Kay: A and B antigens of the human foetal erythrocyte. Brit.J.Haemat. 8, 57 (1962).

14. Coombs, R.R.A., D. Bedford and L.M. Rouillard: A and B blood group antigens on human epidermal cells. Demonstrated by mixed agglutination. Lancet 21,461 (1956).

15. Coombs, R.R.A., and B. Dodd: Possible agglutination of the principle of mixed agglutination in the identification of blood stains. Medicine, Science and the Law 1,359 (1961).

16. Coombs, R.R.A., A.E. Mourant and R.R. Race: Detection of weak or incomplete Rh-agglutinins. Lancet 2,15 (1945).

17. Dahr, P.: zit. bei Kindler, Ztschr. f. Imm. Forsch. 105,383 (1945).

18. Documenta Geigy. Wissenschaftliche Tabellen. 6. Auflage 1962.

19. Dungern, V.E., und L. Hirszfeld: Über gruppenspezifische Strukturen des Blutes. Zschr. f. Imm. Forsch. 8,526 (1911).

20. Faraone, G.: Über die Ursachen der unspezifischen Wiederherstellung der Isoagglutinine beim Nachweis der isoagglutininablen Substanz des Blutfleckens.
Dtsch. Z. gerichtl. Med. 36,28 (1942).

21. Fiori, A., M. Marigo e P. Benciolani: Il methodo di assorbimento-eluzione per l'identificazione degli antigeni gruppo-specifici nelle tracce di sangue e negli organi.
Riv. Anat. Pat. Oncol. 21,20 (1962).

22. Flaschenträger, B., und E. Lehnartz: Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch. Springer Verlag, Berlin 1957.

23. Hausbrandt, F.: Blutgruppenbestimmung an kleinsten Trockenblutmengen durch Agglutininbindung in Capillaren.
Dtsch. Z. gerichtl. Med. 29,501 (1938).

24. Hirzfeld, L.: Probleme der Blutgruppenforschung.
Fischer Verlag, Jena 1960.

25. Hohorst, H.J.: Zur Kenntnis der Natur der M- und N-Substanz menschlicher Erythrozyten. Ztschr. Hyg. 139,561 (1954).

26. Holzer, F.J.: Ein einfaches Verfahren zur Gruppenbestimmung an vertrocknetem Blut durch Agglutininbindung.
Dtsch. Z. gerichtl. Med. 16,445 (1931).

27. Jungwirth, J.: Ausscheidung von Gruppenstubstanzen bei Trägern der Blutgruppe 0. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 43, 524 (1955).

28. Kind, S.S.: Absorption-elution grouping of dried blood smears. Nature, 185, 397 (1960).

29. Kind, S.S.: Absorption-Elution grouping of dried blood stains on fabrics. Nature 187, 789 (1960).

30. Kind, S.S.: The AB0 grouping of blood stains. Journal of criminal law 53, 367 (1962).

31. Kind, S.S.: Some properties of ABH antisera considered in relation to blood stain grouping. Journal of Forensic Medicine 10, 51 (1963).

32. Kindler, M.: Untersuchungen über die Serologie des Blutkörperchenmerkmals M. Ztschr. f. Imm. Forsch. 109, 66 (1951).

33. Klenk, E., und G. Uhlenbruck: Über neuraminsäurehaltige Mucoide aus Menschenerythrozytenstroma, ein Beitrag zur Chemie der Agglutinogene. Ztschr. physiol. Chem. 319, 151 (1960).

34. Klose, I.: Störungen der Blutart-Bestimmungen durch Eigenheiten des Substrates und deren Vermeidung. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 52, 267 (1962).

35. Körner, W., W. Maassen und H.J. Pettenkofer: Über die Entstehung der AB0-Isoantikörper beim Säugling. Ztschr. f. Imm. Forsch. 123, 473 (1962).

36. Kosjakow, P.N.: Polysaccharide - Träger der Gruppeneigenschaften des Menschen. Ztschr. f. Imm. Forsch. 99, 221 (1941).

37. Kosjakow, P.N., und G.P. Tribulev: Zur Frage der chemischen Natur der A, B, M, N-Antigene des Menschen. Ztschr. f. Imm. Forsch. 98, 261 (1940).

38. Krah, E.: Beobachtungen über den schwachen N-Receptor. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 39, 213 (1948/49).

39. Krah, E.: Zum Problem des schwachen N. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 39, 222 (1948/49).

40. Krah, E.: Untersuchungen über den Nachweis der Blutfaktoren M und N durch die Komplementbindungsreaktion. Ztschr. f. Imm. Forsch. 106, 534 (1949).

41. Krah, E.: Der Gehalt menschlicher Organe an MN-Substanz und ein modifiziertes Verfahren zur Herstellung spezifischer Anti-N-Abgüsse. Ztschr. f. Imm. Forsch. 109, 516 (1952).

42. Krüpe, M.: Blutgruppenspezifische pflanzliche Eiweißkörper. Enke Verlag, Stuttgart 1956.

43. Landsteiner, K.: Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. Wien. Klin. Wschr. 14, 1132 (1901).

44. Lattes, L.: Praktische Erfahrungen über Blutgruppenbestimmung in Flecken. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 9, 402 (1927).

45. Lauer, A.: Zur Technik der Blutfleckendiagnose nach M und N. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 22, 86 (1933).

46. Lauer, A., und H. Hoppe: Plexiglas als Objektträger. Dtsch. Med. Wschr. 50, 1579 (1952).

47. Lauer, F. J.: Zerteilung und Trennung von Kolloiden. Kolloid-Zeitschrift 130, 176 (1953).

48. Lewinski, W.: Verwertbarkeit der Blutgruppenuntersuchungen in der Kriminologie. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 27, 194 (1937).

49. Lindner, A.: Statistische Methoden. 4. Auflage. Birkhäuser Verlag, Basel 1964.

50. Marcinkowski, T.: Praktische Modifizierung der Lattes-Methode. Dtsch. Z. Gerichtl. Med. 48, 264 (1958).

51. Maresch, W., und E. Wehrschütz: Moderne Methoden der Blutfleckendiagnostik. Arch. Krim. 132, (1963).

52. Mayer, R.M.: Über den Verbleib von Blutfarbstoff auf grünen Blättern. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 20, 577 (1933).

53. Mueller, B.: Beeinträchtigen Kälte und Quarzlicht die Bestimmbarkeit der Blutgruppe an eingetrocknetem Blut? Dtsch. Z. gerichtl. Med. 23, 40 (1934).

54. Mueller, B.: Gerichtliche Medizin. Springer Verlag, Berlin 1953.

55. Mueller, M.A.: Das Agglutinin-Anreicherungsverfahren zur Blutgruppenbestimmung an altem, eingetrocknetem Blute. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 11, 120 (1928).

56. Nickolls, L.C., and M. Pereira: A study of modern methods of grouping dried blood stains. Med. Sci. Law 2, 172 (1961/62).

57. Ogata, T.: Haemagglutination on a smear. Vox Sang. 5, 252 (1960).

58. Outeridge, R.A.: Absorption-elution grouping of modifications and development of bloodstains. Nature 194, 385 (1962).

59. Outeridge, R.A.: Absorption-elution methode of grouping bloodstains. Nature 195, 818 (1962).

60. Pereira, M.: The identification of MN groups in dried bloodstains. Med. Sci. Law 3, 268 (1963).

61. Pettenkofer, H., und R. Bickerich: Zur direkten Bestimmung der Blutgruppe 0 aus Blut- und Sekretflecken. Arch. Krim 120, 129 (1957).

62. Pietrusky, F.: Über den Blutgruppenantigengehalt des menschlichen Serums, zugleich ein Beitrag zur Frage des Artantigens und der Entstehung der Isoagglutinine. Ztschr. f. Imm. Forsch. 105, 395 (1944/45).

63. Pietrusky, F.: Das Blutgruppengutachten. C.H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München 1956.

64. Ponsold, A.: Eine Mikromethode zur quantitativen Auswertung kleinster Serummengen. Bestimmung des Agglutiningehaltes mittels Capillarröhrchen. Dtsch. Z. gerichtl. Med. 23, 46 (1934).

65. Ponsold, A.: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Theme Verlag, Stuttgart 1957.

66. Pribilla, O., O. Prokop und F. Schleyer: Versuche mit der A-Blutgruppensubstanz aus Magenmuzin. Ztschr. f. Imm. Forsch. 108, 487 (1951).

67. Prokop, O.: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1960.

68. Prokop, O., und G. Uhlenbruck: Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen. Edition Leipzig 1963.

69. Rapport, S.: Medizinische Biochemie. Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1962.

70. Sander, F., und M. Sander: Zur Onto- und Phylogenese der Blut- und Faktoreneigenschaften. Ztschr. Inn. Med. 7, 536 (1952).

71. Schaidt, G.: Auswertung von Blutspuren in Flüssigkeiten und Schmutz. Arch. Krim. 122, 68 (1958).

72. Schleyer, F.: Vergleichende Untersuchungen über den optimalen Nachweis von AB0-Agglutinogenen in Blutflecken. Ztschr. f. Imm. Forsch. 114, 244 (1957).

73. Schleyer, F.: Weitere Untersuchungen über den optimalen AB0-Gruppennachweis in Blutflecken auf Textilien. Arch. Krim. 127, 161 (1961).

74. Schwerd, W.: Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate. Verlag Max Schmidt-Römhild, Lübeck 1961.

75. Spielmann, W.: Die Blutgruppensubstanzen, ihre Isolierung, ihre Eigenschaften und ihre praktische Verwendung. Dtsch. Med. Wschr. 83, 2330 (1958).

76. Staude, G.: Herstellung, Charakterisierung und serologische Auswertung von Gruppensubstanzen. Med. Inaug. Diss. Frankfurt/M. 1957.

77. Thornton, J.I., and P.L. Kirk: Individualizing dry blood samples by demonstration of the Rhesus antibody. Journal of forensic medicine 10, 123 (1963).

78. Uhlenbruck, G.: Die chemische Natur der menschlichen Blutgruppen. Umschau 12, 355 (1960).

79. Uhlenbruck, G.: Über die von den Genen MM und NN gebildete Blutgruppensubstanz. Ztschr. f. Imm. Forsch. 121, 420 (1961).

80. Vogel, G.: Untersuchung von Blutspurenmaterial. Kriminalistik 16, 439 (1962).

81. Wiener, A.S.: Isoagglutinins in dried blood stains. A sensitive technique for gheir demonstration. Journal of forensic medicine 10, 130 (1963).

82. Wiener, A.S., and M. Herman: The second stage of the agglutinative reaction. J. Immunol. 36, 255 (1939).

83. Wiener, A.S., and I.B. Wexler: The mosaic structure of red blood cell agglutinogens. 16, 69 (1952).

84. Witebsky, E.: Über die Antigenfunktion der alkohollöslichen Bestandteile menschlicher Blutkörperchen verschiedener Gruppen. Ztschr. f. Imm. Forsch. 49, 1 (1927).

85. Yokoyama, M., and E.G. Trams: Effect of enzymes on blood group antigens. Nature 194, 1048 (1962).

86. Yosida, K.: Über die gruppenspezifischen Unterschiede der Transsudate, Exsudate, Sekrete, Exkrete, Organextrakte und Organzellen des Menschen und ihre rechtsmedizinischen Anwendungen. Ztschr. ges. exp. Med. 63, 331 (1928).

Lebenslauf

Am 12. März 1919 wurde ich, Ernst Ullmann, als Sohn des Diplom-Ingenieurs Dr. Ernst Ullmann und seiner Ehefrau Margarete, geb. Förtner, in Göppingen geboren.

Von Herbst 1925 bis zum Dezember 1926 besuchte ich die Volksschule in Jebenhausen bei Göppingen, vom Januar 1927 bis 1929 die Volksschule in Nürnberg-Reichelsdorf. Anschließend trat ich in das Neue Gymnasium Nürnberg ein. Dort legte ich im Juli 1938 nach neunjährigem Besuch die Reifeprüfung ab. Im Herbst 1938 begann ich mein Hochschulstudium mit dem Fach Physik an der Universität Berlin, zwei Semester hörte ich in der gleichen Fakultät der Universität Erlangen über. Es wurde mir ein Semester auf meine Studienzeit angerechnet.

Am 16. April 1941 bestand ich nach dem 6. Fachsemester das Vorexamen. Im Sommersemester 1941 studierte ich in Münster. Im Herbst 1941 absolvierte ich wieder an der Universität Erlangen-Nürnberg. Die ärztliche Voruntersuchung bestand ich am 2. August 1942. Nach weiteren sechs studierten Semestern, die ich alle an der Erlanger Universität absolvierte, schloß ich mein Studium mit der Prüfung zum Diplom-Physiker ab.

Erlangen, [illegible]

[illegible]

Offset - Fotodruck
- J. Hogl, Erlangen, Brüxer Straße 9, (Nähe Röthelheimbad) Telefon 15336 -